DOI:10.11931/guihaia.gxzw201907047

香雪兰花瓣的花色苷组成

郁晶晶[1]，唐东芹[1*]，李欣[2]

（1.上海交通大学农业与生物学院，上海，200240；2.上海交通大学分析测试中心，上海，200240）

摘要：研究不同品种香雪兰的花色苷组成、含量及与花色表型之间的关系，以期阐明香雪兰花色形成机理，并为新品种培育、花色改良和育种工作提供理论依据。本文以不同花色的香雪兰(*Freesia hybrida*) 11 个品种为材料，采用英国皇家园艺学会比色卡（RHSCC）和色差仪进行花色描述，利用特征颜色反应初步确定色素类型，通过 pH 示差法测定花瓣中总花色苷的含量，进而利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析各品种花瓣中花色苷种类和相对含量。结果表明 11 个所选品种涵盖香雪兰四大色系：白色系、黄色系、红色系、蓝紫色系；所选品种都含有黄酮类化合物，不含或含有极低量的类胡萝卜素，除‘White River’、‘Fragrant Sunburst’、‘Gold River’、‘Tweety’外，均含有花色苷；‘Red Passion’花瓣中总花色苷含量最高，最低是‘Lovely Lavender’，其含量仅为‘Red Passion’的 24 %；在香雪兰花瓣中共检测出 10 个花色苷组分，分别为：飞燕草-二葡萄糖苷、矢车菊素-二葡萄糖苷、矮牵牛素-二葡萄糖苷、飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、芍药素-二葡萄糖苷、锦葵素-二葡萄糖苷、矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷、芍药素-3-O-葡萄糖苷、锦葵素-3-O-葡萄糖苷；红色系品种‘Red Passion’和‘上农红台阁’花瓣中主要成分为矢车菊素类化合物，蓝紫色系品种‘Pink Passion’、‘Castor’、‘上农淡雪青’和‘上农紫玫瑰’花瓣中主要成分为矮牵牛素类和锦葵素类化合物，‘Lovely Lavender’花瓣仅含飞燕草素类化合物。研究表明不同品种香雪兰花瓣颜色的呈现与花色苷种类有关，花瓣着色程度则与花瓣中花色苷总含量成正比。

关键词：小苍兰，花色，类黄酮，花色苷，液相色谱

中图分类号：　　　　文献标识码：A　　　　文章编号：

Anthocyanin composition profiles in petals of *Freesia hybrida*

YU Jingjing[1]，TANG Dongqin[1*], LI Xin[2]

基金项目：上海市农委科技兴农重点攻关项目(G20140102)；上海市闵行区科委产学研项目(2017MH288) [Supported by Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program(G20140102); Production-University-Research program of Minhang Science & Technology Commission of Shanghai (2017MH288)]。

作者简介：郁晶晶（1994-），女，江苏南通人，硕士，研究方向为园林植物，(E-mail) 465575019@qq.com。

***通信作者**：唐东芹，副教授，研究方向为园林植物，(E-mail) dqtang@sjtu.edu.cn。

(1. *School of Agriculture & Biology,* Shanghai Jiao Tong University, 200240, Shanghai, China; 2. *Shanghai Jiao Tong University Instrumental Analysis Center,* 200240, Shanghai, China)

Abstract: We studied on the relationship between composition and contents of anthocyanin and flower color to clarify the formation mechanism of different colors of petals of freesia. This study also provided theoretical basis for the cultivation of new varieties. We analyzed the anthocyanin profiles in 11 cultivars of freesia. The petal color was observed according to the Royal Horticultural Society Color Card (RHSCC) and color meter. Pigment type was determined by characteristic color reaction. Total anthocyanins were measured by pH differential method. UPLC-Q-TOF-MS was used for qualitative and quantitative analysis of anthocyanins. The results showed that the 11 selected varieties covered four major colors of freesia: white, yellow, red, and blue-purple. All selected cultivars contained flavonoids, which did not contain or contain very low amounts of carotenoids; meanwhile, every cultivar, except for 'White River', Fragrant Sunburst', 'Gold River', 'Tweety', contained anthocyanins in petals. Among seven anthocyanin-contained cultivars, the highest anthocyanin content was detected in petals of 'Red Passion' and the lowest was 'Lovely Lavender' which is only 24 % of 'Red Passion'. A total of ten anthocyanin components were detected in petals of eleven cultivars, including Delphinidin-diglucoside, Cyanidin-diglucoside, Petunidin-diglucoside, Delphinidin-3-O-glucoside, Cyanidin-3-O-glucoside, Peonidin-diglucoside, Malvidin-diglucoside, Petunidin-3-O-glucoside, Peonidin-3-O-glucoside, Malvidin-3-O-glucoside. 'Red Passion' and 'Shangnong Hongtaige' mainly contained Cyanidin derived anthocyanins. 'Pink Passion', 'Castor', 'Shangnong Danxueqing' and 'Shangnong Purple Rose' mainly contained Delphinidin and Malvidin derived anthocyanins. 'Lovely Lavender' only contained Delphinidin derived anthocyanins. The colors of petals of different freesia cultivars were related to anthocyanin components, meanwhile, the degree of petal coloration is proportional to the total content of anthocyanins in the petals.

Key words: Freesia hybrid, flower color, flavonoids, anthocyanin, UPLC-Q-TOF-MS

花色作为园林植物观赏性的决定性状之一，是植物自然进化过程中最具适应意义的表型性状（戴思兰和洪艳，2016）。花色苷类物质是大多数花色形成的重要组成色素，广泛存在于超过 90%的被子植物中，目前已经在牡丹（华梅等，2017）、睡莲（朱满兰等，2012）、风信子（陶秀花等，2015）、菊花（孙卫等，2010）等观赏植物中开展相关研究。

香雪兰的花色具有特殊性和独特的观赏价值。香雪兰(*Freesia hybrida*)又名小苍兰，是鸢尾科（Iridaceae）香雪兰属（*Freesia*）多年生球茎植物，目前广泛栽植的是园艺杂交品种，花色丰富，因此研究其花瓣花色苷组成具有重要意义。迄今为止，国内外对于香雪兰的研究主要集中在辐射育种、切花保鲜、繁殖发育与栽培技术、花期调控及花期生理研究（曾敏，2012）等方面，但对于香雪兰花瓣色素组成模式迄今不完全清楚，国内仅见对部分品种的花色素成分和稳定性进行初步分析，推定出香雪兰花瓣中 6 个花色苷种类（徐怡倩等，2016）。本课题组在香雪兰的引种和栽培方面已有 20 多年经验，并开展了较为系统的科学研究。本文选取了 11 个国内外香雪兰品种，颜色覆盖四大主要色系，通过花色描述、特征颜色反应、pH 示差法及 UPLC-Q-TOF-MS 技术对 11 个香雪兰品种的花色、花色素类型及花色苷含量和组分进行研究，初步分析了香雪兰花色形成的不同物质成分及其呈色方面差异，以期为新品种培育、花色改良和育种工作提供理论依据。

1. 材料与方法

1.1材料采集与预处理

选择‘White River’、 ‘Red Passion’、‘上农红台阁’、 ‘Tweety’、‘Gold River’、‘Fragrant Sunburst’、 ‘Pink Passion’、‘Castor’、‘Lovely Lavender’、‘上农淡雪青’和‘上农紫玫瑰’等覆盖香雪兰四大色系的11个商业品种为材料（丁苏芹等，2019），其中3个为上海交通大学农业与生物学院自主培育的新品种，其余品种为进口品种，购自Van den bos公司(https://www.vandenbos.com)。11个品种除‘上农红台阁’是重瓣以外，其余均为单瓣品种。

于2017年10月下旬定植于上海交通大学闵行校区现代农业工程训练中心标准大棚中，并于2018年3-4月盛花期上午10时左右，分别从不同单株上采集五个花朵完全开放的整支花序，装入塑料自封袋内。分别留取15～20朵来自不同花序的小花进行花色描述和色素定性，其余小花分为3份，每份鲜重0.2 g左右，用铝箔纸包好立即用液氮速冻，放置于-80 ℃冰箱储存用于花色苷定性和定量研究。

由于小苍兰花朵主要观赏部位为中上部，花瓣主要颜色表现也由中上部决定，因此，本实验仅对其花瓣中上部进行测定。

1.2香雪兰花色表型的检测

在室内稳定光源条件下，用英国皇家园艺学会比色卡(RHSCC)与香雪兰花瓣中上部花色进行对比，描述花色（记录对应的编号），每个品种重复测定 10 次，取出现频率最高的结果。

用 3nh 通用色差仪 SC-10（深圳市三恩时科技有限公司，中国）测定花色的明度 L^*值、色相 a^*、b^*值，并计算彩度 C^*和色相角度值 h^o。$C^*=\sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$，h^o

= $\tan^{-1}\left({b^*}/{a^*}\right)*{180^{\circ}}/{\pi}$。$C^*$值表示到$L^*$轴的垂直距离，距离越大，彩度越大（Wang et al.，2004），每个品种设 6 个生物学重复，取平均值。

1.3香雪兰花瓣花色苷的初步鉴定

取 11 个品种盛花期花瓣 0.2 g，分别放入研钵中，向研钵中分别加入石油醚、10 %盐酸、30 %氨水各 10 mL，研磨，观察反应液的颜色并记录（陈建等，2009）。

1.4香雪兰花瓣花色苷种类与含量的检测

1.4.1 花瓣总花色苷含量测定

提取液的配制参考孙卫（2010）的方法略微改动。每个品种设 3 个生物学重复，取平均值作为该品种的总花色苷含量。

采用 pH 示差法进行测定总花色苷含量（Fuleki et al.，2010），计算公式如下：

$$C\,(\mathrm{mg{\cdot}g^{-1}}) = \quad ;$$

$$A=(A_{520}\text{-}A_{700})\ \mathrm{pH1.0}\text{-}(A_{520}\text{-}A_{700})\ \mathrm{pH4.5}$$

式中：C：花色苷含量（mg·g^{-1}）；A：吸光值；ε：矢车菊素-3-葡萄糖苷的摩尔消光系数（26900）；M：花色苷分子质量（449.2）；DF：稀释倍数；V：体积（mL）;W：样品重量（g）;L：光程（1 cm）

1.4.2 花瓣花色苷种类和含量的检测

花色苷组分分析采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用仪（UPLC-Q-TOF-MS），仪器为上海沃特世科技有限公司生产。花色苷混合标准品 European Pharmacopoeia Reference Standard，购自法国的 EDQM 公司，包括矢车菊素 3-O 葡萄糖苷、矮牵牛素 3-O 葡萄糖苷、飞燕草素 3-O 葡萄糖苷、锦葵色素 3-O 葡萄糖苷、芍药素 3-O 葡萄糖苷等 20 种花色苷标准品。UPLC 分析条件：柱温 45 °C，流速 0.4 mL·min^{-1}，进样体积 3 μL；流动相：A 液：0.1 %的甲酸溶液（V $_{甲酸}$：V $_{水}$=0.1：99.9）；B 液：含 0.1%甲酸乙腈（V $_{甲酸}$：V $_{乙腈}$=0.1：99.9）。梯度洗脱程序：0 min，95 %A，5 %B；3 min，80 %A，20 %B；10 min，0 %A，100 %B；12 min，0 %A，100 %B；15 min，5 %A，95 %B；19 min，5 %A，95 %B。质谱分析条件：电喷雾电离，正离子检测模式，扫描范围为 50 to 1000 m·z^{-1}，扫描速度 0.2 s；毛细管电压 2000 V，锥孔电压 40 V，雾化气温度 450 °C，雾化气流量 900 L·h^{-1}，锥孔反吹气 50 L·h^{-1}，离子源温度 115 °C。花色苷各组分的相对含量分析采用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用仪(UPLC-Q-TOF-MS)进行，通过标准曲线法对花瓣各个组分进行相对定量。

1.5 数据分析

使用软件 Microsoft Office Excel 2003、Origin 对数据进行整理、分析、制图，数值为 3 次生物学重复的平均值±标准误差。使用 SPSS-statistics 17.0 对花色表型和总花色苷含量进行相关性分析，利用 EXCEL2013 对不同花色香雪兰品种之间花色苷总含量的差异进行方差分析。

2．结果与分析

2.1 香雪兰花瓣色素的表型特征

利用色差仪对 11 个香雪兰品种的花瓣进行测定，结果如表 1 所示。11 个香雪兰品种花色在 CIE 表色系统坐标系上分布广泛，亮度 L^*值的分布范围介于 35.46 到-88.42 之间。红绿属性 a^*值的分布范围介于-0.32 和 58.66 之间，黄蓝属性 b^*值的分布范围介于-35.05 到 64.03 之间，彩度 C^*值的分布范围介于 7.08 到 65.84 之间，色相角 h^o值的分布范围介于-43.16 到 82.51 之间。由黄绿属性 b^*、h^o值看，所选 11 个品种覆盖香雪兰 4 大色系(图 1)：Ⅰ：白色系，仅 1 个品种‘White River’；Ⅱ：红色系，共 2 个品种，‘Red Passion’和‘上农红台阁’；III：黄色系，共 3 个品种，包括‘Tweety’、‘Gold River’和‘Fragrant Sunburst’；Ⅳ：蓝紫色系，共 5 个品种，包括‘Pink Passion’、‘Castor’、‘Lovely Lavender’、‘上农淡雪青’和‘上农紫玫瑰’。



注：Ⅰ.‘White River’；Ⅱ.‘Red Passion’、‘上农红台阁’；Ⅲ.‘Tweety’ 、‘Gold River’、‘Fragrant Sunburst’；Ⅳ.‘Pink Passion’、‘Castor’、‘Lovely Lavender’、 ‘上农淡雪青’、‘上农紫玫瑰’。

Note：Ⅰ.‘White River’; Ⅱ.‘Red Passion’、‘SN hongtaige’; Ⅲ.‘Tweety’ , ‘Gold River’, ‘Fragrant Sunburst’; Ⅳ. ‘Pink Passion’, ‘Castor’, ‘Lovely Lavender’, ‘SN danxueqing’ , ‘SN purple rose’.

图 1 香雪兰 11 品种的花色分类图

Fig.1 Classification of 11 *Freesia hybrida* cultivars based on flower color

表 1 香雪兰 11 个品种花瓣的花色参数

Table 1 Petal color parameters of 11 *Freesia hybrida* cultivars

序号 No.	品种 Cultivar	花色 Color	RSHCC No.	CIELab L^*	a^*	b^*	C^*	$h(°)$
1	'Red Passion'	Red	RHS45A	36.25	33.50	51.18	61.23	56.72
2	'上农红台阁' 'SN hongtaige'	Red	RHS45A	39.80	39.54	32.50	51.30	39.52
3	'Fragrant Sunburst'	Yellow	RHS6A	78.68	9.39	64.03	64.72	81.66
4	'Gold River'	Yellow	RHS7D	78.37	7.30	55.52	56.00	82.51
5	'Tweety'	Yellow	RHS12A	82.79	8.30	55.88	56.49	81.55
6	'Lovely Lavender'	Light Violet	RHS85B	75.63	13.57	-9.28	16.48	-34.17
7	'Pink Passion'	Pink Purple	RHSN74A	38.18	58.32	-23.27	62.81	-21.93
8	'Castor'	Violet	RHSN87A	35.46	37.32	-35.05	51.21	-43.16
9	'上农紫玫瑰' 'SN purple rose'	Purple Pink	RHSN74B	37.72	58.66	-29.89	65.84	-27.00
10	'上农淡雪青' 'SN danxueqing'	Light Violet	RHS76B	53.13	33.40	-14.00	35.98	-21.80
11	'White River'	White	RHSN999D	88.42	-0.32	7.10	7.08	6.59

2.2 花瓣色素的化学组成特征

在石油醚特征颜色反应测试中，所有供试品种均表现为无色，表明香雪兰花瓣中不含或含极低量胡萝卜素。在盐酸特征颜色反应测试中，'Red Passion'、'上农红台阁'、'Lovely Lavender'、'Pink Passion'、'Castor'、'上农紫玫瑰'、'上农淡雪青'等 7 个品种显示出粉红色、橙红色，初步说明这些品种中含有花色苷且含量可能存在差异，而'White River'、'Fragrant Sunburst'、'Gold River'、'Tweety'等 4 个品种表现为无色，说明其花瓣中不含或含极低量花色苷。在氨水特征颜色反应测试中，11 个香雪兰品种均表现出不同程度的黄色、锈黄色，说明 11 个香雪兰品种花瓣中均含有黄酮类化合物且含量可能存在差异（高锦明，2003）。

表 2 香雪兰 11 个品种花瓣色素的特征颜色反应

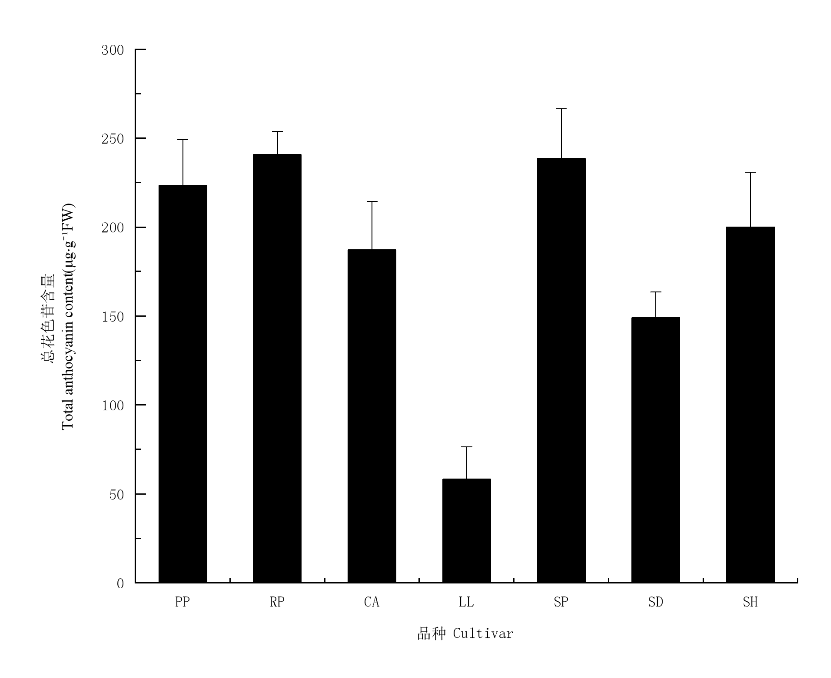
Table 2 Test of pigment types in petals of *Freesia hybrida*

品种 Cultivar	石油醚 Petroleum	10 %盐酸 10 % HCL	30%氨水 30 %$NH_3 \cdot H_2O$	色素类型 Pigment type
'Red Passion'	无色 Colorless	橙红色 Orange-red	橙黄色 Orange-yellow	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'上农红台阁' 'SN hongtaige'	无色 Colorless	红色 Red	黄绿色 Yellow-green	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'Fragrant Sunburst'	无色 Colorless	黄色 Yellow	黄色 Yellow	黄酮 Flavone
'Gold River'	无色 Colorless	黄色 Yellow	黄色 Yellow	黄酮 Flavone

'Tweety'	无色 Colorless	黄色 Yellow	黄色 Yellow	黄酮 Flavone
'Lovely Lavender'	无色 Colorless	粉色 Pink	黄色 Yellow	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'Pink Passion'	无色 Colorless	粉色 Pink	黄色 Yellow	黄酮 Flavone
'Castor'	无色 Colorless	粉色 Pink	黄色 Yellow	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'上农紫玫瑰' 'SN purple rose'	无色 Colorless	淡粉色 Light pink	黄色 Yellow	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'上农淡雪青' 'SN danxueqing'	无色 Colorless	橙红色 Reddish orange	黄色 Yellow	花色苷和黄酮 Anthocyanin and flavone
'White River'	无色 Colorless	无色 Colorless	淡黄色 Light yellow	黄酮 Flavone

2.3 香雪兰花瓣总花色苷含量特征

香雪兰花瓣中总花色苷含量如图 2 所示。由于白色系品种'White River'和黄色系品种'Tweety'、'Gold River'和'Fragrant Sunburst'花瓣中不含或含有极低量花色苷，因此该 4 个品种总花色苷含量并未在图中表示。测定结果表明，不同品种香雪兰花瓣总花色苷含量差异显著（如表 3）。其中，'Red Passion'花瓣中总花色苷含量最高，高达 240.63 μg·g^{-1} FW，其次为'上农紫玫瑰'，为238.64 μg·g^{-1} FW。'Lovely Lavender'总花色苷含量最低，为58.10 μg·g^{-1} FW，'Red Passion'花瓣中总花色苷含量是'Lovely Lavender'的近 4 倍。



注：**PP.** Pink Passion; **RP.** Red Passion; **CA.** Castor; **LL.** Lovely Lavender;

SP. 上农紫玫瑰；**SD.** 上农淡雪青；**SH.** 上农红台阁。

Note: **PP.** Pink Passion; **RP.** Red Passion; **CA.** Castor; **LL.** Lovely Lavender;

SP. SN purple rose; **SD.** SN danxueqing; **SH.** SN hongtaige.

图 2 香雪兰 7 个品种花瓣中总花色苷含量

Fig.2 Total anthocyanin content in the petals of seven cultivars of *Freesia hybrid*

表 3 香雪兰 7 个品种总花色苷含量的方差分析

Table 3 ANOVA analysis of the content of total anthocyanins among seven cultivars of *Freesia hybrid*

变量来源 Variation source	SS	df	MS	F	$F_{0.01}$
回归 Among class	74576.1	6	12429.35	22.5448	4.45582
残差 Inner class	7718.448	14	551.3177	-	-
总计 Total	82294.54	20	-	-	-

注：**SS.** 平方和；**DF.** 自由度；**MS.** 均方；**F.** 均方比；**$F_{0.01}$.** F 在 0.01 水平上的临界值。

Note：**SS.** Sequare sum; **DF.** Degree of freedom; **MS.** Mean sequare sum; **F.** Mean sequare sum among class/mean sequare sum inner class; **$F_{0.01}$.** The threshold value of F at 0.01.

2.4 花色苷组分分析

根据花色苷的紫外可见吸收特征，在 520 nm 处检测出 10 种花色素苷物质(表 4)，各花色素苷的结构由 UPLC-Q-TOF-MS 分析进一步确定。通过花色苷混合标准品鉴定出飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷、芍药素-3-O-葡萄糖苷、锦葵素-3-O-葡萄糖苷等 5 种花色苷组分。

此外，结合文献中保留时间、质谱数据比对推定了另 5 种花色苷组分。其中峰 1、2、3、6、7 苷元离子质荷比为 303、287、317、301、331，分别是飞燕草素苷元、矢车菊素苷元、矮牵牛素苷元、微量芍药素苷元、锦葵素苷元的特征碎片离子。推测出的 5 个花色苷物质的分子离子和碎片离子分子量都相差 324，对应两个葡萄糖苷的分子量，因无法确定糖苷所带位置，分别推定为飞燕草-二葡萄糖苷（Delphinidin-diglucoside）、矢车菊素-二葡萄糖苷（Cyanidin-diglucoside）、矮牵牛素-二葡萄糖苷（Petunidin-diglucoside）、芍药素-二葡萄糖苷（Peonidin-diglucoside）、锦葵素-二葡萄糖苷（Malvidin-diglucoside）等 5 种花色苷物质（Wu et al., 2005）。

表 4 香雪兰花色苷组分的紫外-可见吸收光谱与质谱数据

Table 4 Chromatographic and spectral data of anthocyanins from flowers of *Freesia hybrida*

峰号 peak No.	保留时间(min) Retention time	分子及碎片离子(m/z) Molecules and debris ions	花色苷指认 Anthocyanin identification	参考文献 Reference

1	4.25	627,303	飞燕草-二葡萄糖苷 Delphinidin-diglucoside	Wu et al., 2005
2	4.70	611,287	矢车菊素-二葡萄糖苷 Cyanidin-diglucoside	Wu et al., 2005
3	4.94	641,479,317	矮牵牛素-二葡萄糖苷 Petunidin-diglucoside	Wu et al., 2005
4	4.97	465,303	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷 Delphinidin-3-O-glucoside	混标鉴定 Standard identification
5	5.44	449,287	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷 Cyanidin-3-O-glucoside	混标鉴定 Standard identification
6	5.45	625,301	芍药素-二葡萄糖苷 Peonidin-diglucoside	Wu et al., 2005
7	5.62	655,331	锦葵素-二葡萄糖苷 Malvidin- diglucoside	Wu et al., 2005
8	5.78	479,317	矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷 Petunidin-3-O-glucoside	混标鉴定 Standard identification
9	6.28	463,301	芍药素-3-O-葡萄糖苷 Peonidin-3-O-glucoside	混标鉴定 Standard identification
10	6.53	493,331	锦葵素-3-O-葡萄糖苷 Malvidin-3-O-glucoside	混标鉴定 Standard identification

2.5 花色苷相对含量分析

7 个香雪兰品种花瓣花色苷组成和相对含量如表 5 所示，其中白色品种‘White River’和黄色系品种‘Tweety’、‘Fragrant Sunburst’、‘Gold River’并未检测到花色苷。不同品种香雪兰花瓣中分别含有 2~8 个花色苷，没有一个品种同时含有 10 个。在蓝紫色系 5 个品种中，‘Pink Passion’、‘Castor’、‘上农紫玫瑰’、‘上农淡雪青’花瓣中分别含有 7、6、5、2 个花色苷，且全部含有矮牵牛素类和锦葵素类，其中在‘Pink Passion’、‘Castor’、‘上农淡雪青’花瓣中，矮牵牛素-二葡萄糖苷(Petunidin-diglucoside)为主要成分，分别占总花色苷比例为 42.3%、48.3%、57.87%，但是‘上农紫玫瑰’花瓣中主要成分是锦葵素-二葡萄糖苷(Malvidin-diglucoside)，占总花色苷比例 50%以上，其后是矮牵牛素-二葡萄糖苷(Petunidin-diglucoside)，占总花色苷的 26.6%。同一色系另一品种‘Lovely Lavender’花瓣中有且仅含有 2 个飞燕草素类化合物，主要成分是飞燕草素-二葡萄糖苷（Delphinidin-diglucoside），占总花色苷含量 95%以上。在红色系品种‘Red Passion’和‘上农红台阁’花瓣中主要成分为矢车菊素类化合物，含量分别占总花色苷 46.5 %和 52.4 %。

表 5 香雪兰 7 个品种花瓣中各花色苷所占比例

Table 5 Distribution of anthocyanin components in petals of seven cultivars of *Freesia hybrida*

品种 Cultivar	各花色苷所占比例 Distribution of anthocyanin components (%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
‘Red Passion’	16.9	37.6	6.0	13.5	8.9	—	—	15.0	1.0	1.0
‘上农红台阁’ ‘SN hongtaige’	—	—	—	9.2	52.4	—	—	35.2	1.0	2.2
‘Lovely Lavender’	97.4	—	—	2.6	—	—	—	—	—	—
‘Pink Passion’	22.0	8.6	42.3	3.6	—	5.0	—	6.6	—	12.1
‘Castor’	15.2	L	48.3	—	—	0.15	21.0	—	—	15.4
‘上农淡雪青’ ‘SN danxueqing’	—	—	57.87	—	—	—	42.13	—	—	—
‘上农紫玫瑰’ ‘SN purple rose’	11.8	0.3	26.6	—	—	L	61.4	—	—	—

注：表中“1-10”表示表 2.4 中推定的 10 种花色苷组分, “—”表示不含有此种花色苷；L 表示该组分含量低于可检测到的最低值。

Note: The numbers ‘1-10’ in this table represent the nine anthocyanins in Table 2.4，‘—’represents not containing the anthocyanin. ‘L’ indicates that the component content is below the lowest detectable value.

2.6 香雪兰花瓣的花色表型与花色苷的相关性特征

根据花色表型测定数据结合花色素组成分析结果，除不含有花色苷的 4 个白色、黄色品种外，选择不同色系的 7 个香雪兰品种为研究对象，分析 L^*、a^*、b^*、C^*、h °值与总花色苷含量（TA）的相关性，如表 6 所示。总花色苷含量与明度 L^*、红绿属性 a^*值、彩度 C^*值呈极显著相关（$P<0.01$），其中与 a^*值呈极显著正相关，与明度 L^*、彩度 C^*值呈极显著负相关。

表 6 花色表型与总花色苷含量的相关性(n=21)

Table 6 Correlation coefficient between flower color and total Anthocyanin Content (n=21)

总花色苷含量 Total Anthocyanin Content	CIELab	相关系数 Correlation coefficient
	L^*	-0.914**
	a^*	0.762**
TA	b^*	0.140
	C^*	0.921**
	h°	0.393

注：**为 P<0.01。Note: **means P<0.01.

结合花瓣总花色苷含量数据，以 TA 为自变量，分别以 L^*、a^*、C^*值为因变量，采用线性回归分析法得到 3 条关系式（n=21），如表 7 所示。关系式(Ⅰ)表明，随着总花色苷含量的提高，亮度随之降低；关系式（Ⅱ）表明，随着总花色苷含量的增加，花色的红色程度会提高。关系式（Ⅲ）表明，随着总花色苷含量的提高，花瓣的彩度提高。

表 7 明度 L^*、a^*、C^*与总花色苷含量间的关系

Table 7 Relationship between L^* a^* C^* and total anthocyanin content

花色与总花色苷含量 Flower color and TA	回归方程 Regression equation	R^2	关系式序号 No.
L^*与 TA	L^*=81.884-1.998TA	0.826	Ⅰ
a^*与 TA	a^*=1.794TA+6.214	0.559	Ⅱ
C^*与 TA	C^*=2.437TA+4.476	0.841	Ⅲ

注：**TA.** 总花色苷含量。

Note：**TA.** Total anthocyanin content.

3. 讨论

本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术在不同花色香雪兰品种中鉴定出 5 个花色苷元，分别为：矮牵牛素、矢车菊素、飞燕草素、锦葵素、芍药素，发现 10 个花色苷结构并进而通过标准品精确鉴定出 5 个花色苷物质，其中芍药素-二葡萄糖苷、矢车菊素-二葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、芍药素-3-O-葡萄糖苷等 4 个花色苷在香雪兰花瓣中首次得到鉴定，但在同为球根花卉的百合科植物郁金香中曾有过报道（袁媛等，2014）。

不同色系香雪兰品种花瓣的最终呈色与花色苷种类和含量密切相关。在本研究中，红色系和蓝紫色系品种花瓣中主要花色苷成份不同，因此花色存在差异。矮牵牛素和锦葵素呈现紫红色或蓝紫色，飞燕草素呈现蓝紫色或蓝色（Liu et al，2016），这是‘Pink Passion’、‘上农紫玫瑰’、‘Castor’、‘上农淡雪青’、‘Lovely Lavender’等 5 个品种花瓣呈现紫色基调的生化基础，与前人的研究结果一致（贾新平等，2018）。红色系品种‘Red Passion’和‘上农红台阁’花瓣中主要成分都是矢车菊素衍生物，而矢车菊素及其衍生物是红色系花瓣呈色的物质基础（于晓南和张启翔，2002），因此该两个品种花瓣呈现红色，这与山茶花（李辛雷等，2019）、风信子（陶秀花等，2015）的研究结果相似。总花色苷含量是影响花色明暗程度和色调的重要因素，总花色苷含量增加，可使花色变暗，颜色向红色和紫红色方向靠近，在本研究中，‘Red Passion’、‘Pink Passion’等花瓣总花色苷含量较高，相应地，花色更接近深红、深紫红色，‘Lovely Lavender’花瓣总花色苷含量较低，花色相应较浅，这与石斛（李崇晖等，2013）、

菊花（孙卫等，2010）等花卉相似。不同品种花瓣总花色苷含量差异显著，可能是来源于一个或多个花色苷合成结构基因表达水平的显著差异，而结构基因表达由相应的调节基因所调控（Davies，2009），因此研究不同色系香雪兰品种花色变化的原因，后续将深入不同品种花色苷合成途径中涉及的结构基因和（或）调节基因表达水平上的差异进行研究，为将来全面阐述香雪兰花朵呈色机理提供更为详实的证据。

综上所述，本研究分析了 11 个香雪兰品种花瓣花色素类型并从中检测出 10 个花色苷物质，通过比较不同色系香雪兰品种花色苷组成和含量以及花色之间的差异，从生理生化层面探讨了花色差异的形成机制，为后续深入开展香雪兰花色分子调控机理研究以及新花色品种培育提供依据。

参考文献：

CHEN J, LV CP, CHEN CT, et al., 2009. Components of flower pigments in the petals of different color *Gerbera* jamesonii [J]. J Hunan Agric Univ (Nat Sci Ed), 35(S1):73-76.[陈建，吕长平，陈晨甜，等，2009. 不同花色非洲菊品种花色素成分初步分析[J].湖南农业大学学报(自然科学版)，35(S1)：73-76]

DAI SL, HONG Y, 2016. Molecular breeding for flower colors modification on ornamental plants based on the mechanism of plant[J]. Sci Agric Sin, 49(3): 29-542. [戴思兰，洪艳，2016. 基于花青素苷合成和呈色机理的观赏植物花色改良分子育种[J]. 中国农业科学，49(3)：529-542.]

Davies K.M, 2019. Modifying anthocyanin production in flowers[J]. Anthocyanins, 38(09): 49-80.

DING SQ, SUN YI, LI X, et al, 2019. The numerical classification of *Freesia hybrida* flower color phenotype[J]. N Hortic, 4(43): 85-91. [丁苏芹，孙忆，李玺，等, 2019. 小苍兰品种花色表型数量分类研究[J].北方园艺，4(43)：85-91.]

FULEKI T, FRANCIS FJ, 2010. Quantitative methods for anthocyanins.4.determination of individual anthocyanins in cranberry and cranberry products [J].J Food Sci, 33 (5): 471-478.

LI CH, WANG LS, SHU QY, et al., 2013. Floral colors of *Phalaenopsis* type dendrobium and their flavonoid composition [J]. Acta Hortic Sinica, 40(1): 107-116. [李崇晖，王亮生，舒庆艳，等，2013. 蝴蝶石斛兰花色表型及类黄酮成分分析[J]. 园艺学报，40(1)：107-116.]

LIU L, ZHANG LY, WANG SL, et al., 2016. Analysis of anthocyanins and flavonols in petals of 10 Rhododendron species from the Sygera Mountains in Southeast Tibet[J]. Plant Physiol Biochem,104(104): 250-256.

LI XL, YIN HF, FAN ZQ, et al., 2019.The Relationship between anthocyanins and flower colors of Bud Mutation in *Camellia japonica*[J]. Sci Agric Sin 52(11): 1961-1969. [李辛雷，殷恒福，范正琪，等，2019. 山茶芽变花色与花青苷的关系[J].中国农业科学，52(11)：1961-1969.]

GAO JM, 2003. Chemical plant[M]. Beijing: Sci Press:166-169. [高锦明，2003. 植物化学[M]. 北京：科学出版社：166-169.]

HUA M, YUAN XL, YANG W, et al., 2007. Analysis of anthocyanins and flavonols in six different colors of petals of *Paeonia delavayi* by high performance liquid chromatography [J]. J W Chin For Sci, 46(6): 40-45.[华梅，原晓龙，杨卫，等，2017. HPLC 分析 6 种不同花色滇牡丹花瓣中花青素和黄酮[J]. 西部林业科学，46(06)：40-45.]

JIA XP, DENG YM, SUN XB et al., 2018. Anthocyanin profiles in petals of *Orychophragonus violaceus* [J]. Chinese Agri Sci Bull, 34(10): 60-64.[贾新平，邓衍明，孙晓波，等，2018. 二月兰花瓣花色苷组成分析[J]. 中国农学通报，34(10)：60-64.]

SUN W, LI CH, WANG LS, et al., 2010. Analysis of anthocyanins and flavones in different-colored flowers of *Chrysanthemum*[J]. Chin Bull Bot, 45(3): 327-336. [孙卫，李崇晖，王亮生，等，2010. 菊花不同花色品种中花青素苷代谢分析[J].植物学报，45(3)：327-336.]

TAO XH, YUAN X, XU YQ, et al., 2015. Anthocyanin profiles in petals of different *Hyacinthus orientalis*[J]. Acta Hortic Sin, 42(2):301-310. [陶秀花，袁媛，徐怡倩，等，2015. 风信子花瓣花色苷组成分析[J].园艺学报，42(2)：301-310.]

WANG LS, Hashimoto F, Shiraishi A,et al., 2004. Chemical taxonomy of the Xibei tree peony from China by floral pigmentation[J]. J Plant Res, 117(1):47--55.

WU XL, Prior RL, 2005. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and berries [J]. J Agric Food Chem, 53(7): 2589-2599.

XU YQ, YUAN Y, TAO XH, et al., 2016. Main anthocyanin profiles in petals of *Freesia hybrida*[J]. Bull Botan Res, 36(2): 184-189. [徐怡倩，袁媛，陶秀花，等，2016. 小苍兰花瓣主要花色苷组分研究[J].植物研究，36(2)：184-189.]

YUAN Y, MA XH, TANG DQ, et al., 2014. Anthocyanin compositions and changes in *Tulipa* fosteriana 'Shangnong Zaoxia' [J]. J Shanghai Jiaotong Univ (Agric Sci Ed), 32(3): 81-88.[袁媛，马晓红，唐东芹，等，2014. 郁金香上农早霞花色苷组成及含量变化[J].上海交通大学学报（农业科学版），32(3)：81-88.]

YU XN, ZHANG QX, 2002. Anthocyanin in ornamental plant and color express[J]. Sci Silv Sin, 38(3): 147-153. [于晓南，张启翔，2002.观赏植物的花色素苷与花色[J].林业科学，38(3)：147-153.]

ZENG M, 2012. Study on the flower time regulator and flower physiology of *Freesia refracta* 'Xiangmei' [D]. Fujian Agri For Univ. [曾敏，2012. 小苍兰品种'香玫'的花期调控及花期生理研究[D].福建农林大学，2012.]

ZHONG HQ, CHEN YQ, HUANG ML, et al., 2009. The component and stability of anthocyanins in petals of *Freesia refracta* cultivars[J]. J Trop Subtrop Bot, 17(06): 571-577. [钟淮钦，陈源泉，黄敏玲，等，2009. 小苍兰花色色素成分及稳定性分析[J].热带亚热带植物学报，17(06)：571-577.]

ZHANG YQH, WANG YX, FANG WM, et al., 2018. Changes of colors and pigment compositions during the senescence process of *Chrysanthemum morifolium*[J]. Acta Hortic Sin, 45(3): 519-529.[张杨青慧，王艺光，房伟民，等，2018. 菊花衰老过程中花色变红与色素成分变化分析[J].园艺学报，45(3)：519-529.]

ZHU ML, WANG LS, ZHANG HJ, et al., 2012. Relationship between the composition of anthocyanins and flower color variation in hardy water lily (*Nymphaea* spp.) cultivars [J]. Chinese Bull Bot, 47(05): 437-453. [朱满兰，王亮生，张会金，等，2012. 耐寒睡莲花瓣中花青素苷组成及其与花色的关系[J].植物学报，47(5)：437-453.]